ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 48, 1, 2014

УДК 576.893.192.6 + 579.881.31

ВЫЯВЛЕНИЕ ДНК ПЕРЕНОСИМЫХ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ ПАТОГЕНОВ В КРОВИ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ИЗ ЛЕСНОЙ ЗОНЫ СРЕДНЕГО ПРИИРТЫШЬЯ (ОМСКАЯ ОБЛАСТЬ, ЗАПАДНАЯ СИБИРЬ)

© В. А. Рар,[1] Т. И. Епихина,[2] Н. В. Тикунова,[3]
Е. И. Бондаренко,[4] М. К. Иванов,[5] В. В. Якименко,[6]
М. Г. Малькова,[7] А. К. Танцев[8]

[1, 2, 3] Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
пр. Ак. Лаврентьева, 8, Новосибирск, 630090
[4, 5] ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск, а/я 492, 630117
[5] Институт цитологии и генетики СО РАН
пр. Ак. Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090
[6, 7, 8] ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора
пр. Мира, 7, Омск, 644080
[1] E-mail: rarv@niboch.nsc.ru

Поступила 09.06.2013

Мышевидные грызуны были отловлены на двух изолированных лесных участках Омской обл. в зоне симпатрии *Ixodes persulcatus* и *Ixodes trianguliceps*. В образцах крови грызунов была обнаружена ДНК следующих патогенов, переносимых иксодовыми клещами: *Borrelia burgdorferi* sensu lato (частота выявляемоети 20.0 и 6.0 %, значения на первом и на втором участке, здесь и далее), *Borrelia miyamotoi* (8.3 и 2.0 %), *Anaplasma phagocytophilum* (33.3 и 48.0 %), *Ehrlichia muris* (30.0 и 2.0 %) и *Babesia microti* (33.3 % и 42.0 %). Выявлены три генетические группы *A. phagocytophilum* по последовательностям гена 16S рРНК и groESL оперона и две генетические группы *B. microti* по 18S рРНК: тип *B. microti* 'US' и тип *B. microti* 'Munich'.

Ключевые слова: *Ixodes persulcatus*, *Ixodes trianguliceps*, иксодовые клещи, полевки, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*, генетическая вариабельность, 16S рРНК, groESL оперон, Западная Сибирь.

Иксодовые клещи служат переносчиками вирусных, бактериальных и протозойных возбудителей инфекционных заболеваний человека и домашних животных (Балашов, 2009). Жизненные циклы переносимых клещами патогенов включают стадии размножения в иксодовых клещах, также в клетках крови и внутренних органов позвоночных животных, служащих их резервуарными хозяевами.

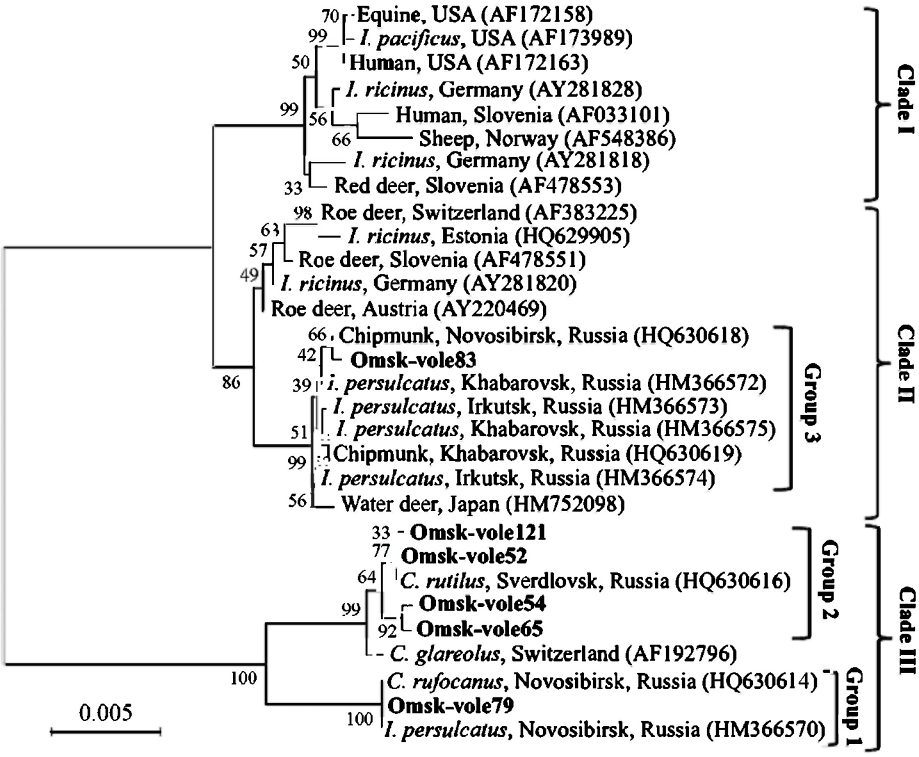
Обитающие в лесных биотопах мышевидные грызуны — основные прокормители преимагинальных стадий развития таежного клеща *Ixodes persulcatus* (Филиппова, 1985). В регионах России в *I. persulcatus* и мелких млекопитающих обнаружен ряд патогенных и потенциально патогенных для людей бактериальных и протозойных возбудителей: боррелии комплекса *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.) и *B. miyamotoi* (сем. Spirochaetaceae); возбудитель гранулоцитарного анаплазмоза человека *Anaplasma phagocytophilum* и предполагаемый возбудитель моноцитарного эрлихиоза человека *Ehrlichia muris* (сем. Anaplasmataceae); простейшие гемопаразиты *Babesia microti* и др. (Korenberg et al., 2002; Шпынов и др., 2004; Самохвалов и др., 2010; Фоменко и др., 2010; Rar et al., 2011a, b).

Спирохеты комплекса *B. burgdorferi* s.l. — возбудители распространенных иксодовых клещевых боррелиозов. Переносчиками *B. burgdorferi* s.l. служат клещи рода *Ixodes*. Известно 18 видов комплекса *B. burgdorferi* s.l., для 9 доказана патогенность для человека (Rudenko et al., 2011); из них в России наиболее распространены *Borrelia afzelii* и *B. garinii* (Korenberg et al., 2002). В клещах *Ixodes ricinus* и *I. persulcatus* выявлены также *B. miyamotoi*, генетически схожие с возбудителями клещевых возвратных лихорадок, переносимыми аргасовыми клещами (Bunikis et al., 2004; Фоменко и др., 2010; Geller et al., 2012).

Бактерии *Ehrlichia muris* в Евразии обнаружены в клещах *Haemaphysalis flava*, *I. ricinus*, *I. persulcatus*, а также в мышевидных грызунах и бурозубках (Kawahara et al., 1999; Шпынов и др., 2004; Spitalska et al., 2008; Rar et al., 2010). Показано, что бактерии *E. muris* высоко консервативны.

Распространенные в США и Евразии облигатные внутриклеточные бактерии *Anaplasma phagocytophilum* инфицируют гранулоциты у млекопитающих и вызывают гранулоцитарный анаплазмоз у людей и различных видов домашних и сельскохозяйственных животных (Bakken, Dumler, 2006). Широкий круг переносчиков и резервуарных хозяев вида *A. phagocytophilum*, вероятно, обусловлен его высокой генетической вариабельностью. На основании нуклеотидных последовательностей groESL оперона белков теплового шока большинство европейских изолятов *A. phagocytophilum* подразделяются на две большие группы — клад I и клад II (Petrovec et al., 2002; von Loewenich et al., 2003; Katargina et al., 2012). Клад I объединяет изоляты *A. phagocytophilum*, обнаруженные в клещах *Ixodes ricinus* и в крови широкого круга позвоночных хозяев, включая оленей, косуль, овец, лошадей, также больных людей, а клад II — только изоляты *A. phagocytophilum* от *I. ricinus* и косуль (см. рисунок).

Выявленные нами ранее в России бактерии *A. phagocytophilum* на основании нуклеотидных последовательностей groESL оперона были отнесены к трем различным генетическим группам — группам 1—3 (Rar et al., 2011b). *A. phagocytophilum* из групп 1 и 2, обнаруженные в образцах крови от полевок и бурозубок, существенно отличаются от большинства европейских изолятов и вместе с образцом *A. phagocytophilum* от рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*) из Швейцарии (Liz et al., 2000) образуют новый клад на дендрограмме — клад III (Rar et al., 2011b). *A. phagocytophilum* из группы 3, обнаруженные в образцах крови от бурундуков, образуют отдельную ветвь в кладе II, образованном европейскими изолятами *A. phagocytophilum* от косуль и *I. ricinus* (см. рисунок). Анаплазмы из генетических


70
Equine, USA (AF172158)
99
I. pacificus, USA (AF173989)
50
Human, USA (AF172163)
I. ricinus, Germany (AY281828)
99
56
Human, Slovenia (AF033101)
66
Sheep, Norway (AF548386)
I. ricinus, Germany (AY281818)
33
Red deer, Slovenia (AF478553)
98
Roe deer, Switzerland (AF383225)
63
I. ricinus, Estonia (HQ629905)
57
Roe deer, Slovenia (AF478551)
49
I. ricinus, Germany (AY281820)
Roe deer, Austria (AY220469)
66
Chipmunk, Novosibirsk, Russia (HQ630618)
42
Omsk-vole83
86
39
I. persulcatus, Khabarovsk, Russia (HM366572)
I. persulcatus, Irkutsk, Russia (HM366573)
51
I. persulcatus, Khabarovsk, Russia (HM366575)
99
Chipmunk, Khabarovsk, Russia (HQ630619)
I. persulcatus, Irkutsk, Russia (HM366574)
56
Water deer, Japan (HM752098)
33
Omsk-vole121
77
Omsk-vole52
64
C. rutilus, Sverdlovsk, Russia (HQ630616)
99
Omsk-vole54
92
Omsk-vole65
C. glareolus, Switzerland (AF192796)
100
C. rufocanus, Novosibirsk, Russia (HQ630614)
Omsk-vole79
100
I. persulcatus, Novosibirsk, Russia (HM366570)
0.005
Group 3
Group 2
Group 1
Clade I
Clade II
Clade III

NJ-дендрограмма 1244-bp последовательностей фрагмента groESL оперона *A. phagocytophilum*.

Шкала: 0.5 % дивергенции. Жирным шрифтом выделены оригинальные последовательности *A. phagocytophilum* от полевок (Omsk-vole52, Omsk-vole54, Omsk-vole65, Omsk-vole79, Omsk-vole83 и Omsk-vole121).

The NJ-tree of the 1244-bp sequences of *A. phagocytophilum* groESL operon. Scale bar: 0.005 nucleotides per position. Original sequences from voles (Omsk-vole52, Omsk-vole54, Omsk-vole65, Omsk-vole79, Omsk-vole83, and Omsk-vole121) are marked in bold.

групп 1 и 3 были обнаружены не только в крови млекопитающих, но и в клещах *I. persulcatus*, для анаплазм из группы 2 переносчик не установлен.

Простейшие гемопаразиты *Babesia microti* представляют собой генетически гетерогенный вид, состоящий из нескольких кластеров (Nakajima et al., 2009; Gray et al., 2010). Распространенная в США и Евразии генетическая группа *B. microti* 'US'-type объединяет штаммы, выделенные от больных людей и от мышевидных грызунов (Zamoto et al., 2004; Gray et al., 2010). Экспериментально показано, что специфическими переносчиками *B. microti* 'US'-type могут служить клещи *I. ricinus* и *I. persulcatus* (Gray et al., 2002; Zamota-Niikura et al., 2012). Ряд европейских штаммов и изолятов *B. microti* от грызунов и клещей *I. ricinus* относятся ко второму кластеру, названному *B. microti* 'Munich'-type (Nakajima et al., 2009; Beck et al., 2011; Welc-Faleciak et al., 2012). Еще два кластера, *B. microti* 'Kobe'-type и *B. microti* 'Hobetsu'-type, объединяют японские изоляты бабезий. В России в крови мелких млекопитающих были выявлены 2 генетические группы *B. microti* — *B. microti* 'US'-type и *B. microti* 'Munich'-type (Zamoto et al., 2004; Rar et al., 2011a; Нефедова и др., 2012), но лишь один из этих вариантов (*B. microti* ‘US’-type) был обнаружен в клещах *I. persulcatus* (Rar et al., 2011a).

Помимо *I. persulcatus* в лесной зоне Урала и Сибири распространен *Ixodes trianguliceps*, характеризующийся смешанным (пастбищно-норным) типом паразитизма и на всех стадиях развития связанный исключительно с мелкими млекопитающими (Малюшина, 1966; Korenberg, Lebedeva, 1969). Нет свидетельств того, что клещи *I. trianguliceps* способны инфицировать людей или домашних и сельскохозяйственных животных, однако клещи данного вида участвуют в поддержании природных очагов различных видов возбудителей. Установлена инфицированность клещей *I. trianguliceps* боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. (Korenberg et al., 2002). Доказано участие *I. trianguliceps* в трансмиссии *A. phagocytophilum* и *B. microti* ‘Munich’-type мелким млекопитающим в Англии (Bown et al., 2008, 2011). В Тюменской обл. из *I. trianguliceps* выявлена ДНК эрлихий и анаплазм (Колчанова, Брагина, 2011).

Нами высказано предположение, что на территории России *I. trianguliceps* может служить переносчиком второй генетической группы *A. phagocytophilum* и *B. microti* ‘Munich’-type, т. е. генетических групп, не обнаруженных в таежных клещах (Rar et al., 2011a, b). Это предположение основано на том, что данные генетические группы были ранее выявлены только в крови мелких млекопитающих на участках совместного обитания видов *I. persulcatus* и *I. trianguliceps* (Северный Урал, заповедник «Денежкин камень»), первый из которых характеризовался низкой численностью и мозаичным распространением (Ливанова, Ливанов, 2010).

С целью проверки данного предположения на инфицированность переносимыми иксодовыми клещами патогенами была исследована кровь мелких млекопитающих из участков совместного распространения *I. persulcatus* и *I. trianguliceps* на территории Омской обл.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Отлов, очес и вскрытие мелких млекопитающих в природе проводились в соответствии с требованиями МУ 3.1.1029-01 и СП 1.3.1285-03 (Методические..., 2001; Санитарно-эпидемиологические..., 2003). Зверьков отлавливали живоловками со стандартной приманкой (корочки серого хлеба, смоченные в нерафинированном подсолнечном масле), установленными линиями по 50, 75 или 100 шт. с интервалом 5 м; ловушки проверяли дважды в сутки — утром и вечером. Относительная численность (отн. числ.) мелких млекопитающих оценивалась по количеству особей, пойманных на 100 ловушко-суток (л/с). Очес и вскрытие животных проводили в полевых лабораториях. Собранных при очесе иксодид (преимущественно — нимф и имаго на любой стадии напитывания) сохраняли до исследования в герметичных полипропиленовых пробирках типа «Eppendorf» в сосудах Дьюара при температуре жидкого азота. Виды членистоногих идентифицировали в стационарной лаборатории.

Использованы стандартные паразитологические индексы оценки численности клещей, собранных при очесе: обилия (По; экз./ос.) — среднее число особей паразитов на одну особь хозяина; встречаемости (В, %) — доля хозяев, на которых обнаружены клещи; доминирования (Ид, %) — доля особей каждого вида в общем объеме сборов, выраженная в процентах. Показатели статистической ошибки выборочной доли (m_p) рассчитывали по стандартным методикам (Плохинский, 1970).

Сбор образцов проводили на двух участках лесной зоны Омской обл., удаленных друг от друга на 60 км и разделенных долиной р. Иртыш и широкой полосой болот левобережья р. Иртыш. Грызунов отлавливали во всех основных группах местообитаний в пределах каждого из участков.

На первом участке (подзона южной тайги, GPS: 57°37′ N, 73°03′ E) отлов грызунов проводили в июне 2011 г. Отработано 730 л/с, отловлено 66 экз. мелких млекопитающих: рыжая полевка (*Clethrionomys glareolus* Schreb.) — 23 экз.; красная полевка (*Clethrionomys rutilus* Pall.) — 21 экз.; красно-серая полевка (*Clethrionomys rufocanus* Sund.) — 17 экз.; полевая мышь (*Apodemus agrarius* Pall.) — 1 экз.; обыкновенная бурозубка (*Sorex araneus* L.) — 1 экз.; *Sorex* sp. — 3 экз. При очесе собрано 170 экз. клещей двух видов: *I. persulcatus* (119 экз.) и *I. trianguliceps* (47 экз.), а также личинки и нимфы *Ixodes* sp. (4 экз.). На наличие ДНК патогенов исследованы образцы крови от 59 экз. лесных полевок трех видов и 1 экз. полевой мыши. Относительную численность таежного клеща оценивали по стандартной методике на флаг на линейных транссектах с пересчетом на 1 км учетного маршрута. Протяженность учетных маршрутов и привязку к биотопам конкретных типов производили с помощью GPS-навигатора. Результаты по фауне иксодовых клещей, фауне мелких млекопитающих и их эктопаразитов в 2011 г. сравнивали с данными многолетних наблюдений для оценки типичности наблюдаемой ситуации.

На втором участке (пограничная территория подзоны мелколиственных лесов (подтайги) и южной тайги, GPS: 57°15′ N, 72°20′ E) грызунов отлавливали в сентябре 2011 г. Отработано 250 л/с, отловлено 107 экз. мелких млекопитающих: *C. rutilus* — 90 экз.; *C. glareolus* — 9 экз.; *C. rufocanus* — 5 экз.; *Ap. agrarius* — 1 экз.; *S. araneus* — 1 экз. При очесе собрано 264 экз. иксодовых клещей 3 видов: *I. trianguliceps* (233 экз.), *I. persulcatus* (25 экз.), единично — *I. apronophorus* (1 экз.), а также личинки и нимфы *Ixodes* sp. (5 экз.). На ДНК патогенов исследованы образцы крови от 49 экз. лесных полевок 3 видов и 1 экз. полевой мыши. Результаты по фауне млекопитающих в 2011 г. сравнивали с данными пятилетних наблюдений для оценки типичности наблюдаемой ситуации. Информация по численности имаго таежного клеща на данной территории приводится на основании предшествующих многолетних учетов.

Образцы крови, по 200 мкл от каждого животного, собирали в стерильные пробирки, содержащие по 30 мкл 0.5 М раствора ЭДТА, добавляли по 400 мкл буфера для лизиса (4 М гуанидин тиоционат, 0.1 М Трис-HCl pH 6.4, 0.045 М ЭДТА pH 8.0, 1.3 % Тритон X-100), перемешивали и хранили при температуре не выше +12 °C в полевых условиях и при +4 °C в стационарной лаборатории. Для выделения ДНК использовали по 100 мкл полученной суспензии.

Выделение ДНК из образцов крови проводили с использованием набора реагентов «РеалБест экстракция 100» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск) в соответствии с инструкцией производителя.

ДНК боррелий выявляли при проведении ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени с помощью набора реагентов «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi* s.l.» и «РеалБест ДНК *Borrelia miyamotoi*» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск) в соответствии с инструкцией производителя (Бондаренко и др., 2012, 2013).

ДНК бактерий из сем. Anaplasmatacea выявляли двумя методами: посредством проведения ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени с помощью набора реагентов «РеалБест ДНК *Anaplasma phagocytophilum* / *Ehrlichia muris*, *Ehrlichia chaffeensis*» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск) в соответствии с инструкцией производителя (Бондаренко и др., 2012), а также методом двухраундовой ПЦР в присутствии родоспецифичных праймеров из области гена 16S рРНК (Rar et al., 2010). При проведении первого раунда ПЦР были использованы праймеры Ehr1 и Ehr2, а при проведении второго раунда — праймеры Ehr3 и Ehr4 (табл. 1). Для всех положительных образцов был проведен второй раунд ПЦР в присутствии праймеров, специфичных к *A. phagocytophilum* (HGE1 и HGE2) и *E. muris* (Em1 и Em2). Для последующего определения нуклеотидных последовательностей фрагменты гена 16S рРНК длиной около 1350 н. п. были амплифицированы с использованием в первом раунде ПЦР праймеров Ehr1 и Ehr6, а во втором раунде — праймеров Ehr7 и Ehr8. Фрагменты groESL оперона длиной около 1320 н. п. были амплифицированы с использованием в первом раунде ПЦР праймеров HS1-f и HS6-r, а во втором раунде — праймеров HS3-f и HSVR (табл. 1).

ДНК бабезий выявляли методом двухраундовой ПЦР в присутствии родоспецифичных праймеров из области гена 18S рРНК (Rar et al., 2011a). При проведении первого раунда ПЦР были использованы праймеры BS1 и BS2, а при проведении второго раунда — праймеры PiroA и PiroC (табл. 1). Генотипирование положительных образцов проводили при проведении второго раунда ПЦР в присутствии праймеров, специфичных к «истинным» бабезиям *Babesia* sensu stricta (праймеры BS5 и BS4), к бабезиям из группы *B. microti* (праймеры BS3 и BS4) и к *B. microti* ‘Munich’-type (праймеры PiroA и Bm2) (табл. 1). Продукты ПЦР длиной 1272—1277 н. п., полученные с использованием праймеров BS3-BS4, были использованы для определения нуклеотидных последовательностей.

Нуклеотидные последовательности фрагмента гена 16S рРНК длиной 1295—1299 н. о. и groESL оперона белков теплового шока длиной 1244—1315 н. о. образцов ДНК *A. phagocytophilum* и *E. muris* и нуклеотидные последовательности фрагмента гена 18S рРНК длиной 1211—1219 н. о. образцов ДНК *B. microti* были определены в ЦКП «Геномика» СО РАН, г. Новосибирск (http://sequest.niboch.nsc.ru). Анализ полученных нуклеотидных последовательностей выполняли с использованием программ CLUSTALW (http://www.ebi.ac.uk/clustalw/index.html) и BlastN (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST); построение дендрограмм проводили с помощью пакета программ MEGA 5.0 (http://www.megasoftware.net/manual.html) с использованием метода объединения ближайших соседей (NG, neighbor-joining). Достоверность полученных дендрограмм оценивали с помощью бутстрэп-анализа.

Нуклеотидные последовательности groESL оперона и гена 16S рРНК *A. phagocytophilum* зарегистрированы в базе данных GenBank под номера-

Таблица 1

Праймеры, используемые при проведении двухраундовой ПЦР

Table 1. Primers used for nested PCR assays

Ген	Нуклеотидные последовательности праймеров (5′—3′)	Температура отжига	Ссылки
Ген 16S рРНК Anaplasmataceae	Ehr1 (gaacgaacgctggcggcaagc)	57 °C	Rar et al., 2010
	Ehr2 (agtaycgraccagatagccgc)		
	Ehr3 (tgcataggaatctacctagtag)	60 °C	То же
	Ehr4 (ctaggaattccgctatcctct)		
	Ehr1 (gaacgaacgctggcggcaagc)	63 °C	» »
	Ehr6 (gacccaaccttaaatggctgc)		
	Ehr7 (taacacatgcaagtcgaacg)	60 °C	» »
	Ehr8 (cttcgagttaagccaattcc)		
Ген 16S рРНК *A. phagocytophilum*	HGE1 (cggattattctttatagcttgc)	55 °C	» »
	HGE2 (cttaccgaaccgcctacatg)		
Ген 16S рРНК *E. muris*	Em1 (cgaacggatagctacccatagc)	55 °C	» »
	Em2 (cgctccaaagttaagctttggt)		
groESL оперон *Anaplasmataceae*	HS1-f (cgycagtgggctggtaatgaa)	55 °C	Sumner et al., 1997, измененные
	HS6-r (ccwccwggtacwacaccttc)		
	HS3-f (atagtyatgaaggagagtgat)	50 °C	Liz et al., 2000
	HSVR (tcaacagcagctctagtwg)		
Ген 18S рРНК *Babesia* spp.	BS1 (gacggtagggtattggcct)	58 °C	Rar et al., 2011a
	BS2 (attcaccggatcactcgatc)		
	PiroA (attacccaatcctgacacaggg)	64 °C	Armstrong et al., 1998, измененный
	PiroC (ccaacaaaatagaaccaargtcctac)		Rar et al., 2011a
Ген 18S рРНК *B. microti*	BS3 (taccggggcgacgacgggtg)	60 °C	То же
	BS4 (agggacgtagtcggcacgag)		
Ген 18S рРНК *Babesia* sensu stricto	BS5 (cgaggcagcaacgggtaacg)	60 °C	» »
	BS4 (agggacgtagtcggcacgag)		
Ген 18S рРНК *B. microti* ‘Munich’-type	PiroA (attacccaatcctgacacaggg)	50 °C	» »
	Bm2 (agatagtaaccaattaaggatacc)		

ми KC583431—KC583433, KC583435—KC583437 и KC753762. Нуклеотидная последовательность гена 18S рРНК *B. microti* зарегистрирована в базе данных GenBank под номером KC581934.

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Инфицированность грызунов на первом участке

Среди 17 видов мелких млекопитающих более 90 % составляли полевки рода *Clethrionomys*: 25.8 ± 5.4 % (*C. rufocanus*), 31.8 ± 5.7 % (*C. rutilus*) и 34.8 ± 5.9 % (*C. glareolus*).

Из трех видов иксодид мелких млекопитающих обнаружены *I. persulcatus* и *I. trianguliceps*. Гнездово-норовый *I. apronophorus* населяет преимущественно местообитания с избыточным увлажнением, где исследования в 2011 г. не проводились.

Таблица 2

Биотопическое распределение, относительная численность (экз. на 100 л/с) и пораженность лесных полевок иксодовыми клещами

Table 2. Biotopic distribution, relative numbers (specimens per 100 trap-nights) and forest vole infestation by ticks

Участки	Вид зверька	Биотопы	Относительная численность	n^1	*Ixodes persulcatus*			*Ixodes trianguliceps*			Все клещи	
					Ио	В, % ± m$_p$	Ид, % ± m$_p$	Ио	В, % ± m$_p$	Ид, % ± m$_p$	Ио	В, % ± m$_p$
Участок 1, июнь 2011 г.	*Clethrionomys rutilus*	Хвойный лес	2.2	5	0.40	+*	+	0.80	+	+	1.20	+
		Лиственный лес	1.3	3	5.33	+	69.6±9.8	2.33	+	30.4±9.8	8.33	+
		Пойма ручья	4.6	12	4.67	66.7±9.8	87.5±4.1	0.67	33.3±14.2	12.5±4.1	5.33	66.7±14.2
	C. rufocanus	Хвойный лес	0.9	2	0.50	+	+	—	–	—	0.50	+
		Лиственный лес	5.8	13	1.00	53.8±14.4	38.2±8.3	1.62	46.2±14.4	61.8±8.3	2.62	69.2±13.3
		Пойма ручья	0.7	2	4.00	+	72.7±14.1	1.50	+	27.3±14.1	4.00	+
	C. glareolus	Хвойный лес	0.0	0	—	—		—	—	—	—	—
		Лиственный лес	0.4	1	—	—		—	—	—	—	—
		Пойма ручья	7.9	22	1.05			0.09	9.1±6.3	8.0±5.5	1.14	45.5±10.9
	Все виды	Все биотопы	8.2	60	1.98	40.9+10.7	92.0±5.5	0.75	31.7±6.0	28.3±3.5	2.80	60.0±6.3
Участок 2, сентябрь 2011 г.	*C. rutilus*	Лиственный лес^2	84.0	42	0.57	53.3±6.4	71.7±3.5	1.50	42.9±7.6	72.4±4.8	2.14	54.8±7.7
		Липняк	10.0	10	—	28.6±7.0	27.6±4.8	0.70	40.0±16.3	+	0.70	40.0±16.3
		Пойма ручья	38.0	38	0.03	—	—	3.21	68.4±7.5	99.2±0.8	3.32	71.1±7.4
	C. rufocanus	Лиственный лес^2	0.0	0	—	2.6±2.6	0.8±0.8	—	—	—	—	—
		Липняк	3.0	3	—	—	—	4.67	+	+	4.67	+
		Пойма ручья	2.0	2	—	—	—	9.00	+	+	9.00	+
	C. glareolus	Лиственный лес^2	2.0	1	—	—	—	—	—	—	—	—
		Липняк	2.0	2	—	—	—	—	—	—	—	—
		Пойма ручья	6.0	6	—	—	—	0.67	33.3±21.1	+	0.67	33.3±21.1
	Все виды	Все биотопы	69.3	104	0.24	12.5±3.2	9.9±1.9	2.19	51.9±4.9	90.1±1.9	2.49	57.7±4.8

Примечание. n^1 — количество очесанных зверьков; березово-осиновый лес ^{2} — зверьки из данного биотопа не были исследованы на наличие патогенов; + * — выборка мала для вычислений.

Преобладал клещ *I. persulcatus* (табл. 2): среди пораженных животных на 41.7 ± 8.2 % зверьков отмечен только *I. persulcatus*, на 8.3 ± 4.6 % -- только *I. trianguliceps*, на 44.4 ± 8.3 % — оба вида при численном преобладании *I. persulcatus* (67.0 ± 4.4 %). Численность голодных имаго *I. persulcatus* составляла в местообитаниях разного типа от 3.6 до 42.5 экз./км (в среднем по территории 16.3 экз./км).

На наличие ДНК боррелий, анаплазм, эрлихий и бабезий были исследованы образцы крови от 60 грызунов из всех трех типов местообитания. В образцах крови от 37 зверьков обнаружена ДНК хотя бы одного патогена, при этом наблюдались различные варианты одновременного инфицирования зверьков патогенами. ДНК *A. phagocytophilum*, *E. muris*, *B. microti*, *B. burgdorferi* s.l. и *B. miyamotoi* была обнаружена в образцах крови *C. rutilus*, *C. rufocanus* и *C. glareolus* из разных типов местообитаний. В крови *Apodemus agrarius* обнаружена только ДНК *B. miyamotoi* (табл. 3). У четырех полевок рода *Clethrionomys* была обнаружена ДНК четырех возбудителей одновременно: боррелий, анаплазм, эрлихий и бабезий.

При проведении двухраундовой ПЦР ДНК *A. phagocytophilum* выявлена в образцах крови от 19 полевок, а ДНК *E. muris* — в образцах крови от 18 полевок. При проведении ПЦР-РВ была дополнительно выявлена ДНК *A. phagocytophilum* в одном образце, отрицательном на основании данных двухраундовой ПЦР. По результатам ПЦР-РВ ДНК *B. burgdorferi* s.l. была обнаружена в образцах крови от 12 полевок, а ДНК *B. miyamotoi* — в образцах крови от четырех полевок и одной мыши. На основании результатов проведения двухраундовой ПЦР у 20 полевок была выявлена ДНК бабезий, относящихся к группе *B. microti* (табл. 3). Проведение второго раунда ПЦР в присутствии праймеров, специфичных к *B. microti* 'Munich'-type, показало, что 18 из них содержат ДНК данной генетической группы. ДНК *Babesia* sensu stricto не обнаружена ни в одном из исследованных образцов.

2. Инфицированность грызунов на втором участке.

Основу населения мелких млекопитающих (табл. 2) составляли лесные полевки (98.1 ± 1.3 %), среди которых абсолютно доминировала *C. rutilus* (85.7 ± 3.4 % при численности от 10 до 84 экз. на 100 л/с. Выявлены иксодиды *I. persulcatus*, *I. trianguliceps* и *I. apronophorus*. На всех очесанных зверьках во всех типах местообитаний абсолютно преобладал *I. trianguliceps*, суммарная доля *I. persulcatus* не превышала 10 %, что типично для сентября, а *I. apronophorus* был встречен единично. Среди пораженных животных на 73.3 ± 5.7 % зверьков отмечен только *I. trianguliceps*, на 8.3 ± 3.6 % — только *I. persulcatus*, и на 13.3 ± 4.4 % — клещи обоих видов при численном преобладании *I. trianguliceps* (67.3 ± 6.5 %).

На наличие ДНК патогенов были исследованы образцы крови от 49 лесных полевок и одной полевой мыши, отловленных в двух типах местообитаний. На основании результатов двухраундовой ПЦР ДНК *A. phagocytophilum* была выявлена в образцах крови от 23 полевок, при проведении ПЦР-РВ была дополнительно выявлена ДНК *A. phagocytophilum* еще в одном образце крови. На основании результатов двухраундовой ПЦР у 21 полевки была выявлена ДНК бабезий, относящихся к группе *B. microti*, и у одной полевки — ДНК *E. muris*. По результатам ПЦР-РВ ДНК *B. burgdorferi* s.l. была обнаружена в образцах крови от трех полевок, а ДНК

Таблица 3

Выявление ДНК патогенов в образцах крови грызунов

Table 3. Detection of DNA of pathogens in blood samples of rodents

Вид	Биотопы	n[1]	Абсолютное число (доля, %) зверьков, у которых была выявлена ДНК патогенов (включая случаи смешанного инфицирования)				
			An[2]	Ehr[3]	Bab[4]	Borr[5]	Borr. m[6]
Участок 1							
C. rutilus	Хвойный лес	5	3	3	1	2	—
	Лиственный лес	3	3	2	3	3	—
	Пойма ручья	12	1	5	4	2	1
	Все биотопы	20	7 (35.0 %)	10 (50.0 %)	8 (40.0 %)	7 (35.0 %)	1 (5.0 %)
C. rufocanus	Хвойный лес	2	—	1	—	1	—
	Лиственный лес	13	8	2	8	2	1
	Пойма ручья	2	1	1	1	—	1
	Все биотопы	17	9 (52.9 %)	4 (23.5 %)	9 (52.9 %)	3 (17.6 %)	2 (11.8 %)
C. glareolus	Хвойный лес	—	—	—	—	—	—
	Лиственный лес	2	1	—	1	—	—
	Пойма ручья	20	3	4	2	2	1
	Все биотопы	22	4 (18.2 %)	4 (18.2 %)	3 (13.6 %)	2 (9.1 %)	1 (4.5 %)
Apodemus agrarius	Лиственный лес	1	—	—	—	—	1
Все виды	Все биотопы	60	20 (33.3 %)	18 (30.0 %)	20 (33.3 %)	12 (20.0 %)	5 (8.3 %)
Участок 2							
C. rutilus	Липняк	10	2	—	4	—	—
	Пойма ручья	27	20	—	13	2	1
	Все биотопы	37	22 (59.4 %)	0	17 (45.9 %)	2 (5.4 %)	1 (2.7 %)
C. rufocanus	Липняк	3	1	—	2	—	—
	Пойма ручья	2	1	1	1	1	—
	Все биотопы	5	2 (40.0 %)	1 (20.0 %)	3 (60.0 %)	1 (20.0 %)	0

C. glareolus	Липняк	2	—	—	—	—	—
	Пойма ручья	5	—	—	1		
	Все биотопы	7	—	—	1 (14.3 %)	0	0
Ap. agrarius	Липняк	1	—	—	—	—	—
	Все биотопы	50	24 (48.0 %)	1 (2.0 %)	21 (42.0 %)	3 (6.0 %)	1 (2.0 %)

Примечание. n^1 — число исследованных зверьков; An^2 — *A. phagocytophilum*; Ehr^3 — *E. muris*; Bab^4 — *B. microti*; $Borr^5$ — *B. burgdorferi* s.l.; Borr. m^6 — *B. miyamotoi*.

B. miyamotoi — от одной полевки (табл. 3). Проведение второго раунда ПЦР в присутствии праймеров, специфичных к *B. microti* 'Munich'-type, показало, что в 19 образцах содержится ДНК *B. microti* 'Munich'-type. Всего в образцах крови от 33 зверьков была обнаружена ДНК хотя бы одного патогена.

3. Молекулярно-генетический анализ выявленных патогенов.

Нуклеотидные последовательности groESL оперона были определены для 16 случайно выбранных образцов *A. phagocytophilum* из крови грызунов с первого участка и для 20 образцов со второго участка. Обнаружены нуклеотидные последовательности groESL оперона, относящиеся ко всем трем ранее выявленным на территории России генетическим группам *A. phagocytophilum* — группы 1—3 (см. рисунок).

Нуклеотидные последовательности groESL оперона, определенные в трех образцах с первого участка и в двух образцах со второго участка (типичный образец Omsk-vole79), были идентичны друг другу и последовательности groESL оперона *A. phagocytophilum* из генетической группы 1, обнаруженной ранее в крови полевок на территории Новосибирской обл. и Хабаровского края (GenBank, HQ630614) (Rar et al., 2011b). Определенные последовательности гена 16S рРНК у трех образцов из этой группы также были идентичны друг другу и соответствовали последовательности гена 16S рРНК образцов *A. phagocytophilum* из группы 1 (GenBank, HQ630620).

Нуклеотидные последовательности groESL оперона *A. phagocytophilum*, определенные в 11 образцах с первого участка и в 18 образцах со второго участка, относились к генетической группе 2. В 26 образцах (типичный образец Omsk-vole52) последовательности groESL оперона были идентичны друг другу и последовательности groESL оперона образца *A. phagocytophilum*, обнаруженной ранее в крови полевок на территории Свердловской обл. (GenBank, HQ630616); для образца Omsk-vole121 была отмечена 1 нуклеотидная замена в структуре последовательности groESL оперона, а для образцов Omsk-vole54 и Omsk-vole65 — 4 нуклеотидные замены. Между собой образцы Omsk-vole54 и Omsk-vole65 различались двумя нуклеотидными заменами (см. рисунок). Нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК, определенные для 10 образцов из этой группы, были идентичны друг другу и соответствовали последовательности гена 16S рРНК образцов *A. phagocytophilum* из генетической группы 2 (GenBank HQ630623). В одном образце были одновременно выявлены последовательности groESL оперона, относящиеся к генетическим группам 1 и 2.

Кроме того, в образце Omsk-vole83 была выявлена последовательность groESL оперона *A. phagocytophilum*, относящаяся к генетической группе 3, но отличающаяся 1—4 нуклеотидными заменами от ранее известных последовательностей из этой группы, обнаруженных ранее в *I. persulcatus* в различных регионах России (GenBank, HM366572, HM366573, HM366574 и др.) (см. рисунок). Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК у этого образца соответствовала последовательности гена 16S рРНК образцов *A. phagocytophilum* из группы 3 (GenBank, HM366586).

Для 4 образцов *E. muris* с первого участка были определены нуклеотидные последовательности groESL оперона. Эти последовательности были идентичны друг другу и последовательности groESL оперона, обнаруженной ранее в *I. persulcatus* и мелких млекопитающих в азиатской части России (GenBank, GU358687, GU358689).

Нуклеотидные последовательности гена 18S рРНК были определены для 12 образцов *B. microti*, 8 из которых относились к генетическому варианту *B. microti* — ‘Munich’-type. Нуклеотидные последовательности гена 18S рРНК в 7 образцах крови были идентичны последовательности генетического варианта *B. microti* — ‘Munich’-type от грызунов с Северного Урала (GenBank, AY943958). В одном образце крови (Omsk-vole110) нуклеотидная последовательность гена 18S рРНК отличалась от последовательности *B. microti* — ‘Munich’-type единичной заменой. В 4 образцах крови нуклеотидные последовательности гена 18S рРНК были идентичны последовательности патогенного для людей генетического варианта *B. microti* — ‘US’-type, ранее обнаруженого в *I. persulcatus* и мелких млекопитающих из Новосибирской обл. и Хабаровского края (GenBank, GU057383, GU057386).

ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые на наличие боррелий, эрлихий, анаплазм и бабезий одновременно исследованы мышевидные грызуны, собранные на двух удаленных друг от друга участках с совместным обитанием двух видов переносчиков: *I. persulcatus* и *I. trianguliceps*. В период проведения исследований на обоих участках наблюдали высокую инвазию грызунов клещами *I. trianguliceps*: на первом участке доля грызунов, пораженных клещами *I. trianguliceps*, составила 31.7 % (*I. persulcatus* — 53.3 %), а на втором — 51.9 % (*I. persulcatus* — единично). Наблюдаемое соотношение видов иксодовых клещей на грызунах на втором участке связано с сезонной цикличностью активности *I. persulcatus* в период сбора материала.

На участке 1 основу населения мелких млекопитающих составляли лесные полевки, а в населении иксодовых клещей доминировал *I. persulcatus*, что соответствует данным многолетних исследований для подзоны южной тайги: Ид *I. persulcatus* на лесных полевках в весеннее-летний период варьирует от 49. 0 до 54.1 % (В = 27.7—27.8 %; Но = 1.53—1.56 экз./ос.); Ид

I. trianguliceps — от 30.8 до 41.4 % (В = 22.6—30.3 %; Ио = 0.87—1.32 экз./ос.; Малькова, 2009).

На участке 2 доминировала *Clethrionomys rutilus*, что соответствует общей ситуации в подтайге (Равкин и др., 1996). В сентябре 2011 г. во всех исследованных лесных местообитаниях на зверьках абсолютно преобладал *I. trianguliceps*, а доля *I. persulcatus* не превышала 10 %, что связано с сезонными ритмами активности преимагинальных фаз развития обоих видов: численность личинок и нимф *I. persulcatus* к концу августа резко снижается, а к середине сентября падает до нуля, тогда как для личинок и нимф *I. trianguliceps* характерна активность с марта по ноябрь (Суворова, 1966; Филиппова, 1977). Проводимые в предшествующие годы исследования показали, что фауна иксодовых клещей на данном участке представлена тремя видами: *I. persulcatus*, *I. trianguliceps* и *I. apronopnorus*, численность и пространственное распределение которых варьирует в разные годы в соответствии с природно-климатическими условиями. В годы с типичным для территории уровнем увлажненности и сроками сезонной активности преимагинальных фаз развития 3 видов иксодид (июнь 2000—2002 гг.) показатели их относительной численности на хозяевах (По/Ид) составляли для *I. persulcatus* 0.58/17.1; для *I. trianguliceps* — 1.56/47.0; для *I. apronopnorus* — 1.08/31.9; в сезон минимальной активности таежного клеща *I. persulcatus* (август 1999—2001 гг.) соответственно — для *I. persulcatus* 0.02/2.5; для *I. trianguliceps* — 0.54/70.1; для *I. apronopnorus* — 0.15/19.5. Как видно, на данной территории в разные сезоны *I. trianguliceps*, независимо от присутствия других видов, является фоновым в населении иксодид на мелких млекопитающих. Численность имаго *I. persulcatus* на данной территории невысокая — даже в максимально благоприятных условиях (вырубки и приручьевые биотопы) она не превышает 27 экз./км (12—27 экз./км), в местообитаниях иного типа численность на порядок ниже.

На обоих исследованных в данной работе участках с совместным обитанием *I. persulcatus* и *I. trianguliceps* в крови лесных полевок была обнаружена ДНК различных видов патогенов, а именно *B. burgdorferi* s.l., *B. miyamotoi*, *A. phagocytophilum*, *E. muris* и *B. microti*, что свидетельствует о важной роли лесных полевок в поддержании природных очагов широкого круга переносимых иксодовыми клещами патогенов.

Анализ определенных нуклеотидных последовательностей показал, что выявленные образцы *A. phagocytophilum* относятся к 3 различным генетическим группам (группы 1—3), а образцы *B. microti* — к 2 генетическим группам (*B. microti* ‘US’-type и *B. microti* ‘Munich’-type), ранее обнаруженным на территории России (Rar et al., 2011a, b; Нефедова и др., 2012). При этом у большинства инфицированных особей (80—90 %) была обнаружена ДНК *A. phagocytophilum* из генетической группы 2 и *B. microti* ‘Munich’-type, т. е. ДНК генетических групп, переносчик которых до настоящего времени не был установлен.

Результаты, полученные в настоящей работе, а также данные предыдущих исследований (Rar et al., 2011a, b) показывают, что: 1) ни *A. phagocytophilum* из генетической группы 2, ни *B. microti* ‘Munich’-type не были обнаружены в *I. persulcatus*, собранных на территории Свердловской, Новосибирской, Иркутской областей и Хабаровского края; 2) ни *A. phago-*

cytophilum из генетической группы 2, ни *B. microti* 'Munich'-type не были обнаружены в крови мелких млекопитающих, отловленных на территории Новосибирской обл. и Хабаровского края, в зоне исключительного распространения *I. persulcatus*, без сообитания с *I. trianguliceps*; 3) *A. phagocytophilum* из генетической группы 2 и *B. microti* 'Munich'-type были обнаружены в крови мелких млекопитающих из всех исследованных участков в области симпатрии *I. persulcatus* и *I. trianguliceps*, а именно на одном участке на Северном Урале (заповедник «Денежкин камень») (Rar et al., 2011a, 2011b) и двух участках на территории Омской обл. (данная работа). Совместная инфекция *B. microti* 'US'-type и *B. microti* 'Munich'-type в крови грызунов также выявлена на Среднем Урале в Свердловской обл., где иксодиды представлены *I. persulcatus* и *I. trianguliceps* (Нефедова и др., 2012). Полученные результаты дают основание предполагать, что *I. trianguliceps* участвует в передаче *A. phagocytophilum* из генетической группы 2 и *B. microti* 'Munich'-type мелким млекопитающим. Для строгого подтверждения этой гипотезы необходимы исследования по выявлению и молекулярно-генетическому анализу *Anaplasma* spp. и *Babesia* spp. у различных видов клещей-переносчиков, прокормителями которых служат мелкие млекопитающие.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование частично финансировалось из средств междисциплинарного интеграционного проекта № 135 фундаментальных исследований СО РАН.

Список литературы

Балашов Ю. С. 2009. Паразитизм клещей и насекомых на наземных позвоночных. СПб.: Наука. 357 с.

Бондаренко Е. П., Тимофеев Д. П., Фоменко Н. В., Якименко В. В., Танцев А. К., Рар В. А. 2012. Комплексный подход к выявлению возбудителей инфекций, переносимых клещами, с помощью ПЦР-анализа с детекцией в режиме реального времени. Сиб. мед. журн. 4: 33—36.

Бондаренко Е. П., Позднякова Л. Л., Сибирцева С. Г., Тимофеев Д. П., Фоменко Н. В., Иванов М. К. 2013. Набор реагентов для выявления *Borrelia miyamotoi* — возбудителя клещевой возвратной лихорадки методом ПЦР в режиме реального времени. Новости «Вектор-Бест». 67 (1): 2—6.

Колчанова Л. П., Брагина Е. А. 2011. Выявление ДНК эрлихий и анаплазм у клещей *Ixodes trianguliceps* в Тюменской области. Паразитология. 4: 273—276.

Ливанова Н. Н., Ливанов С. Г. 2010. Зоологические предпосылки существования на Северном Урале инфекций человека, передающихся иксодовыми клещами. Зоол. журн. 6: 1—8.

Малькова М.Г. 2009. Зональные фаунистические комплексы и структура сообществ мелких млекопитающих и связанных с ними членистоногих в Западной Сибири: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск. 42 с.

Малюшина Е. П. 1966. Распространение *Ixodes* (Exopalpiger) *trianguliceps* Bir. в Западной Сибири. В кн: Первое акарологическое совещание. М.; Л. 128—129.

Методические указания. МУ 3.1.1029-01. 2001. Отлов, учет и прогноз численности мелких млекопитающих и птиц в природных очагах инфекций. официальное издание. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России. 59 с.

Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В., Самохвалов М. В., Горелова Н. Б. 2012. Роль личинок клеща *Ixodes trianguliceps* в поддержании циркуляции *Babesia microti* на Среднем Урале. Зоол. журн. 91 (9): 1034—1042.

Плохинский Н. А. 1970. Биометрия. М.: Изд-во МГУ. 367 с.

Равкин Ю. С., Богомолова И. Н., Ердаков Л. Н., Панов В. В., Будайлина Ф. Р., Добротворский А. К., Вартапетов Л. Г., Юдкин В. А., Торопов К. В., Лукьянова И. В. 1996. Особенности распределения мелких млекопитающих Западно-Сибирской равнины. Сиб. экол. журн. 3 (3—4): 307—317.

Самохвалов М. В., Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. П., Морозов А. В., Кузиков И. В., Шефтель Б. П., 2010. Мелкие млекопитающие как возможные резервуарные хозяева *Babesia microti* на Среднем Урале. Зоол. журн. 89 (1): 101—105.

Санитарно-эпидемиологические правила. СП 1.3.1285-03. 2003. Безопасность работы с микроорганизмами I—II групп патогенности (опасности). М.: Минздрав РФ. 62 с.

Суворова Л. Г. 1966. К экологии клеща *Ixodes trianguliceps* Bir. в очаге клещевого энцефалита восточноевропейских южнотаежных лесов. Первое акарологическое совещание. М.; Л. 208—209.

Филиппова Н. А. 1977. Пксодовые клещи подсем. Ixodinae. Фауна СССР. 4 (4). Паукообразные. Л.: Наука. 396 с.

Филиппова Н. А. (ред.). 1985. Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Л.: Наука. 416 с.

Фоменко Н. В., Ливанова Н. Н., Боргояков В. Ю., Козлова И. В., Шулайкина И. В., Пуховская Н. М., Токаревич К. Н., Ливанов С. Г., Дорощенко Е. К., Иванов Л. И. 2010. Выявление *Borrelia miyamotoi* в клещах *Ixodes persulcatus* на территории России. Паразитология. 44 (3): 201—211.

Шпынов С. Н., Рудаков Н. В., Ястребов В. К., Леонова Г. Н., Хазова Т. Г., Егорова Н. В., Борисова О. Н., Прейдер В. П., Безруков Г. В., Федоров Е. Г., Федянин А. П., Шерстнева М. Б., Турышев А. Г., Гаврилов А. П., Танкибаев М. А., Fournier P.-E., Raoult D. 2004. Новые данные о выявлении эрлихий и анаплазм в иксодовых клещах в России и Казахстане. Мед. паразитол. 2: 10—14.

Armstrong P. M., Katavolos P., Caporale D. A., Smith R. P., Spielman A., Telford III S. R. 1998. Diversity of *Babesia* infecting deer ticks (*Ixodes dammini*). American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 58: 739—742.

Bakken J. S., Dumler J. S. 2006. Clinical diagnosis and treatment of human granulocytotropic anaplasmosis. Annals of the New York Academy of Sciences. 1078: 236—247.

Beck R., Vojta L., Curkovic S., Mrljak V., Margaletic J., Habrun B. 2011. Molecular survey of *Babesia microti* in wild rodents in central Croatia. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 11 (1): 81—83.

Bown K. J., Lambin X., Telford G. R., Ogden N. H., Telfer S., Woldehiwet Z., Birtles R. J. 2008. Relative importance of *Ixodes ricinus* and *Ixodes trianguliceps* as vectors for *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in field vole (*Microtus agrestis*) populations. Applied and Environmental Microbiology. 74 (23): 7118—7125.

Bown K. J., Lambin X., Telford G., Heyder-Bruckner D., Ogden N. H., Birtles R. J. 2011. The common shrew (*Sorex araneus*): a neglected host of tick-borne infections? Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 11 (7): 947—953.

Bunikis J., Tsao J., Garpmo U., Berglund J., Fish D., Barbour A. G. 2004. Typing of *Borrelia* relapsing fever group strains. Emerging Infectious Diseases. 10:1661—1664.

Geller J., Nazarova L., Katargina O., Jarvekulg L., Fomenko N., Golovljova I. 2012. Detection and genetic characterization of relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* in Estonian ticks. PLoS One. 7: e51914.

Gray J., von Stedingk L.V., Gürtelschmid M., Granstrom M. 2002. Transmission studies of *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* ticks and gerbils. Journal of Clinical Microbiology. 40 (4): 1259—1263.

Gray J., Zintl A., Hildebrandt A., Hunfeld K. P., Weiss L. 2010. Zoonotic babesiosis: overview of the disease and novel aspects of pathogen identity. Ticks and Tick-borne Diseases. 1 (1): 3—10.

Katargina O., Geller J., Alekseev A., Dubinina H., Efremova H., Mishaeva N., Vasilenko V., Kuznetsova T., Jarvekulg L., Vene S., Lundkvist A., Golovljova I. 2012. Identification of *Anaplasma phagocytophilum* in tick populations in Estonia, the European Part of Russia and Belarus. Clinical Microbiology and Infection. 18: 40—46.

Kawahara M., Ito T., Suto C., Shibata S., Rikihisa Y., Hara K., Hirai K. 1999. Comparison of *Ehrlichia muris* strains isolated from wild mice and ticks and serologic evidence of humans and animals with *E. muris* as antigen. Journal of Clinical Microbiology. 37: 1123—1129.

Korenberg E. I., Kovalevsky Y. V., Gorelova N. B. 2002. Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Russia. In: Gray G., Kahl O., Lane R. S. (eds.). Lyme borreliosis epidemiology and control. Oxford (UK), CAB International. 175—200.

Korenberg E. I., Lebedeva N. N. 1969. Distribution and some general features of the ecology of *Ixodes trianguliceps* Bir. in the Soviet Union. Folia Parasitologica (Praha). 16: 143—152.

Liz J. S., Anderes L., Sumner J. W., Massung R. F., Gern L., Rutti B., Brossard M. 2000. PCR detection of granulocytic ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland. Journal of Clinical Microbiology. 38: 1002—1007.

Nakajima R., Tsuji M., Oda K., Zamoto-Niikura A., Wei Q., Kawabuchi-Kurata T., Nishida A., Ishihara C. 2009. *Babesia microti*-group parasites compared phylogenetically by complete sequencing of the CCTeta gene in 36 isolates. Journal of Veterinary Medical Science. 71: 55—68.

Petrovec M., Bidovec A., Sumner J. W., Nicholson W. L., Childs J. E., Avsic-Zupanc T. 2002. Infection with *Anaplasma phagocytophila* in cervids from Slovenia: evidence of two genotypic lineages. Wiener Klinische Wochenschrift. 31: 641—647.

Rar V. A., Livanova N. N., Panov V. V., Doroschenko E. K., Pukhovskaya N. M., Vysochina N. P., Ivanov L. I. 2010. Genetic diversity of *Anaplasma* and *Ehrlichia* in the Asian part of Russia. Ticks and Tick-borne Diseases. 1(1): 57—65.

Rar V. A., Epikhina T. I., Livanova N. N., Panov V. V. 2011a. Genetic diversity of *Babesia* in *Ixodes persulcatus* and small mammals from North Ural and West Siberia, Russia. Parasitology. 138 : 175—182.

Rar V. A., Epikhina T. I., Livanova N. N., Panov V. V., Doroschenko E. K., Pukhovskaia N. M., Vysochina N. P., Ivanov L. I. 2011b. Genetic variability of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes persulcatus* ticks and small mammals in the Asian part of Russia. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 11 (8): 1013—1021.

Rudenko N., Golovchenko M., Grubhoffer L., Oliver J. H. Jr. 2011. Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. Ticks and Tick-borne Diseases. 2 (3): 123—128.

Spitalska E., Boldis V., Kostanova Z., Kocianova E., Stefanidesova K. 2008. Incidence of various tick-borne microorganisms in rodents and ticks of Central Slovakia. Acta Virologica. 52: 175—179.

Sumner J. W., Childs J. E., Paddock C. D. 1999. Molecular cloning and characterization of the *Ehrlichia chaffeensis* variable-length PCR target: an antigen-expressing gene that exhibits interstrain variation. Journal of Clinical Microbiology. 37: 1447—1453.

von Loewenich F. D., Baumgarten B. U., Schröppel K., Geissdörfer W., Röllinghoff M., Bogdan C. 2003. High diversity of ankA sequences of *Anaplasma phagocytophilum* among *Ixodes ricinus* ticks in Germany. Journal of Clinical Microbiology. 41: 5033—5040.

Welc-Faleciak R., Bajer A., Paziewska-Harris A., Baumann-Popczyk A., Siński E. 2012. Diversity of *Babesia* in Ixodes ricinus ticks in Poland. Advances in Medical Sciences. 57: 364—369.

Zamoto A., Tsuji M., Wei Q., Cho S. H., Shin E. H., Kim T. S., Leonova G. N., Hagiwara K., Asakawa M., Kariwa H., Takashima I., Ishihara C. 2004. Epizootiologic survey for Babesia microti among small wild mammals in northeastern Eurasia and a geographic diversity in the beta-tubulin gene sequences. Journal of Veterinary Medical Science. 66: 785—792.

Zamoto-Niikura A., Tsuji M., Qiang W., Nakao M., Hirata H., Ishihara C. 2012. Detection of two zoonotic *Babesia microti* lineages, the Hobetsu and U.S. lineages, in two sympatric tick species, *Ixodes ovatus* and *Ixodes persulcatus*, respectively, in Japan. Applied and Environmental Microbiology. 78(9): 3424—3430.

DNA DETECTION OF PATHOGENS TRANSMITTED BY IXODID TICKS IN BLOOD OF SMALL MAMMALS INHABITING THE FOREST BIOTOPES IN MIDDLE IRTYSH AREA (OMSK REGION, WEST SIBERIA)

V. A. Rar, T. I. Epikhina, N. V. Tikunova, E. I. Bondarenko, M. K. Ivanov, V. V. Yakimenko, M. G. Malkova, A. K. Tancev

Key words: *Ixodes persulcatus, Ixodes trianguliceps,* ixodid ticks, voles, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*, genetic variability, 16S rRNA, groESL operon, West Siberia.

SUMMARY

Microtine rodents were captured in two disconnected sampling sites in Omsk region where *Ixodes persulcatus* and *Ixodes trianguliceps* are sympatric. In blood samples of rodents the DNA was revealed belonging to several ixodid-transmitted pathogens: *Borrelia burgdorferi* sensu lato (prevalence 20.0 and 6.0 %, here and further values are given for the first and second site, respectively), *Borrelia miyamotoi* (8.3 and 2.0 %), *Anaplasma phagocytophilum* (33.3 and 48.0 %), *Ehrlichia muris* (30.0 and 2.0 %) and *Babesia microti* (33.3 and 42.0 %). Three genetic groups of *A. phagocytophilum* based on 16S rRNA gene and groESL operon, as well as two genetic groups of *B. microti*, *B. microti* 'US'-type and *B. microti* 'Munich'-type, were detected.